

УДК 632.937.14

**ЗАРАЖЕННОСТЬ МИКРОСПОРИДИЯМИ
СТЕБЛЕВЫХ МОТЫЛЬКОВ РОДА *OSTRINIA*
(LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ**

© Ю. М. Малыш, Ю. С. Токарев, Н. В. Ситникова,
А. Г. Конончук, Т. А. Грушецкая, А. Н. Фролов

Всероссийский НИИ Защиты растений РАСХН
шоссе Подбельского, 3 Санкт-Петербург—Пушкин, 196608
E-mail: jumacro@yahoo.com
Поступила 27.04.2011

Впервые для России выявлено заражение микроспоридиями стеблевого мотылька рода *Ostrinia*. Уровень зараженности гусениц последнего возраста второго поколения, собранных в природных условиях в Краснодарском крае в 2005—2010 гг., колебался от 3.0 до 17.2 %. При сравнение уровней зараженности микроспоридиями гусениц, собранных (а) на западной и на восточной границах края и (б) на двудольных (дурнишник, полынь) и однодольных растениях (кукуруза) достоверных различий по уровню зараженности насекомых микроспоридиями не выявлено. Показатель зараженности гусениц *Ostrinia nubilalis* достиг максимального значения при переходе популяции насекомых в состояние депрессии, однако отличие от показателей предыдущих лет не было статистически достоверным. Морфометрические показатели спор во всех проанализированных образцах позволяют идентифицировать вид паразита как *Nosema pyrausta*. Эти данные указывают на широкое распространение микроспоридий в популяциях стеблевых мотыльков на различных кормовых растениях в пределах Краснодарского края.

Ключевые слова: микроспоридии, зараженность, кукурузный мотылек, стеблевой мотылек, *Nosema pyrausta*.

Стеблевой мотылек рода *Ostrinia* широко распространен на территории Евразии и Северной Америки. Для территорий бывшего СССР показано, что генетическая структура популяций *Ostrinia* с трехлопастным ункусом во многом зависит от вида кормового растения. В частности, приуроченность к питанию на разных растениях (двудольных или однодольных) является предпосылкой для формирования этологических барьеров половой изоляции, способствующих расообразованию (Фролов, 1994). Во Франции расы мотылька, питающиеся на однодольных и двудольных растениях, различаются составом половых феромонов, срокам вылета имаго и предпочтениям в выборе растений для откладки яиц (Thomas et al., 2003). Со-

гласно ревизии, проведенной свыше 40 лет назад (Muutura, Monroe, 1970), в Евразии насчитывалось 10 видов рода *Ostrinia* с трехлопастным ункусом. На основании анализа комплекса признаков насекомых, собранных с разных видов растений во Франции и России, особи, питающиеся на двудольных, объединены рамками вида *Ostrinia scapularis* (Walker); а насекомые, приуроченные к питанию на однодольных, отнесены к видам *Ostrinia nubilalis* (Hübner) в Европе и *Ostrinia furnacalis* (Guenée) в Азии (Frolov et al., 2007). Поскольку кукуруза была интродуцирована в Европу и Азию относительно недавно (около 500 лет назад), предполагается, что *O. scapularis* послужила анцестральной формой для недавно возникших *O. nubilalis* и *O. furnacalis*, которым посевы кукурузы предоставили пространство, свободное от естественных врагов (enemy-free space), послужив фактором, благоприятствующим видообразованию (Pelissie et al., 2010). Предложенное систематическое деление представителей рода *Ostrinia* с трехлопастным ункусом на 3 вида подтвердилось при анализе их генетической дифференциации по микросателлитным маркерам (Frolov et al., 2011).

Однако подавляющее большинство исследований насекомых рода *Ostrinia* посвящено кукурузному мотыльку *O. nubilalis*, который широко распространен в Европе и Западной России в качестве вредителя кукурузы и других однодольных злаков. Динамика численности этого фитофага в значительной степени контролируется паразитическими насекомыми. В частности, в исследованиях, проведенных в Краснодарском крае, показано, что значительные спады численности (депрессии) кукурузного мотылька в 1994, 1995 и 2003, 2004 гг. были обусловлены активностью *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) и *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). В ряде случаев оказывается, что неблагоприятные погодные условия (засушливая и жаркая погода) воздействуют на динамику численности фитофага слабее паразитических перепончатокрылых (Фролов, 2004). Высокие показатели зараженности энтомофагами разных видов характерны и для популяций кукурузного мотылька в Западной Европе, при этом видовой состав паразитических насекомых существенно различается в зависимости от расы насекомого-хозяина (Thomas et al., 2003).

В североамериканских популяциях этого насекомого, сформировавшихся в результате его интродукции в начале XX в., специфические насекомые энтомофаги были интродуцированы, но лишь немногие смогли в новых для них условиях ощутимо снижать численность вредителя (Hudon et al., 1989). В этих условиях ведущее значение в регуляции численности насекомых принадлежит микроспоридиям. Эти облигатные внутриклеточные паразиты животных широко распространены в природе; особенности их взаимоотношений с насекомыми позволяют паразитам длительное время сохраняться в популяциях насекомых-хозяев, в том числе при миграциях и интродукциях (Becnel, Andreadis, 1999; Соколова, Исси, 2001). В частности, *Nosema pyrausta* (Paillot) вызывает хронические инфекции, снижающие продолжительность жизни и плодовитость взрослых особей насекомого-хозяина, увеличивают смертность его гусениц, а также вызывают нарушения развития, отрицательно влияющие на успех спаривания и своевременность диапаузы (Solter et al., 1990). В ряде исследований была показана высокая эффективность использования этой микроспоридии в ка-

честве естественного фактора динамики численности и продуцента микробиологических препаратов против кукурузного мотылька (Lewis, Lynch, 1978; Siegel et al., 1988). Однако подавляющее большинство исследований паразито-хозяинной системы *Nosema pyrausta*—*Ostrinia nubilalis* выполнены в Северной Америке. В то же время известно, что микроспоридии широко встречаются в европейских популяциях кукурузного мотылька, например во Франции (Lipa, 1977), Италии (Pezutti et al., 1977), Чехии, Словакии, Польше (Cagaň et al., 1998). В Восточной и Юго-Восточной Азии, где обитает *O. furnacalis*, выявлено его заражение микроспоридией *Nosema furnacalis* (Iwano, Kurtti, 1995). На территории России зараженность стеблевого мотылька микроспоридиями ранее не отмечалась.

В настоящей работе описано заражение стеблевого мотылька микроспоридиями, впервые выявленное на территории России, и описана методика диагностики микроспоридиоза с помощью флюоресцентной микроскопии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сборы насекомых проводили осенью 2005, 2006, 2008—2010 гг. на территории Краснодарского края в двух географических пунктах, удаленных друг от друга на 230 км (рис. 1). Первый пункт, хутор Слободка Славянского р-на, расположен на западной границе Краснодарского края в 10 км от побережья Азовского моря. Сборы в окрестностях хутора Слободка проводили на диких зарослях полыни и частных посевах кукурузы. Второй пункт, пос. Ботаника Гулькевичского р-на, расположен на восточной границе Краснодарского края. Здесь насекомых собирали на диких зарослях дурнишника и на производственных посевах кукурузы Кубанской опытной станции ВИР.

Для сбора насекомых проводили внешний осмотр растений. При обнаружении повреждений, характерных для кукурузного мотылька, вскрывали стебли растений и собирали гусениц последнего возраста. Гусениц содержали в условиях лаборатории в течение зимнего периода при 4 °С для прохождения диапаузы. Трупы гусениц, погибших в период зимовки, собирали и высушивали при комнатной температуре.

Для микроскопического анализа трупы гусениц индивидуально раскладывали в лунки иммунологического планшета и гомогенизировали в капле дистиллированной воды. Нефиксированные мазки просматривали в световой микроскоп Микромед-2 (ЛОМО, Санкт-Петербург) с объективами ×40 и ×90 с масляной иммерсией (МИ). При обнаружении предполагаемых спор микроспоридий проводили анализ методом флюоресцентной микроскопии. Для этого препараты спор фиксировали на стекле абсолютным метанолом в течение 5 мин и высушивали, после чего мазок покрывали 5 мМ диамидинфенилиндолом (ДАФИ). Препараты, окрашенные ДАФИ, просматривали в микроскоп Carl Zeiss Axio 10 Imager M1 с объективами ×40 и ×100 (МИ) и флюоресцентной приставкой с применением DAPI-фильтра.

Измерение спор проводили в приложении Carl Zeiss Axiovision 4.6. Обработку количественных данных проводили на персональном компьютере с использованием электронных таблиц Excel (MS Office 2003) и пакета Statistica 7.0 (StatSoft, Inc.).

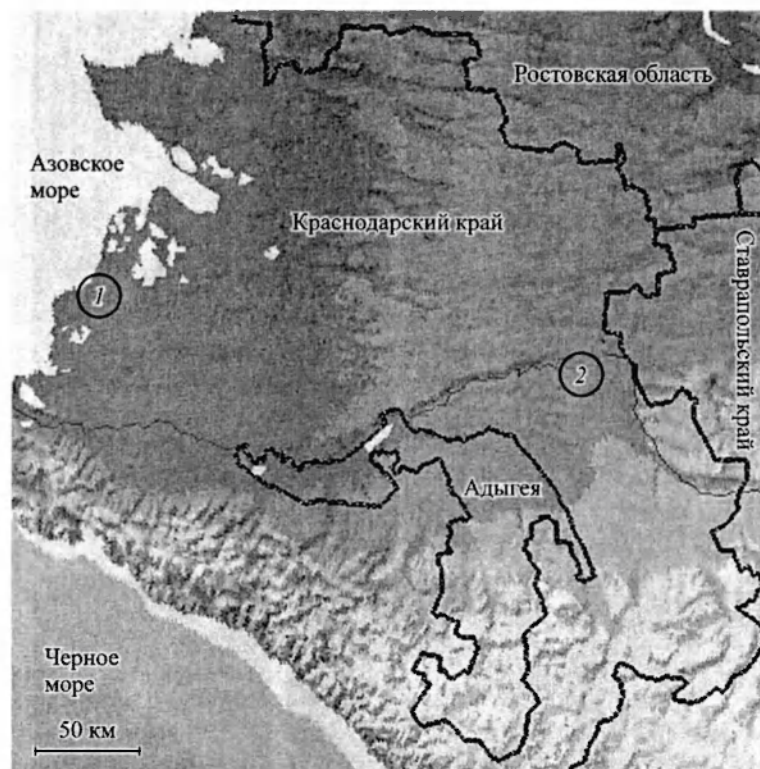


Рис. 1. Места проведения полевых сборов гусениц кукурузного мотылька в Краснодарском крае.

1 — хутор Слободка, Славянский р-н; 2 — пос. Ботаника, Гулькевичский р-н.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Диагностика микроспоридий с помощью флюоресцентной микроскопии. Микроскопический анализ неокрашенных мазков показал наличие множества спор в ряде просмотренных препаратов. Форма и размеры спор, а также наличие характерной оболочки, хорошо различимой при увеличении $\times 900$ (МИ), позволили предположить принадлежность этих спор *Nosema*-подобным формам микроспоридий. Окрашивание фиксированных препаратов флюорохромом ДАФИ подтвердило этот диагноз во всех случаях, поскольку в окрашенных спорах наблюдали ядерный аппарат в виде диплокариона (рис. 2, а, б).

Хотя ДАФИ широко известен как ядерный краситель, он также используется для мечения мембранных структур (Favilla et al., 1993) и белковых комплексов (Mazzini et al., 1994). В наших исследованиях отмечено связывание ДАФИ с цитоплазмой зародыша споры и экзоспорой — внешним слоем оболочки спор микроспоридий, вызывающее флюоресценцию этих структур. Интенсивность свечения цитоплазмы и экзоспоры была гораздо слабее в сравнении с таковой диплокариона. В большинстве случаев это не мешало визуализации ядерного аппарата в спорах. Более того, поскольку

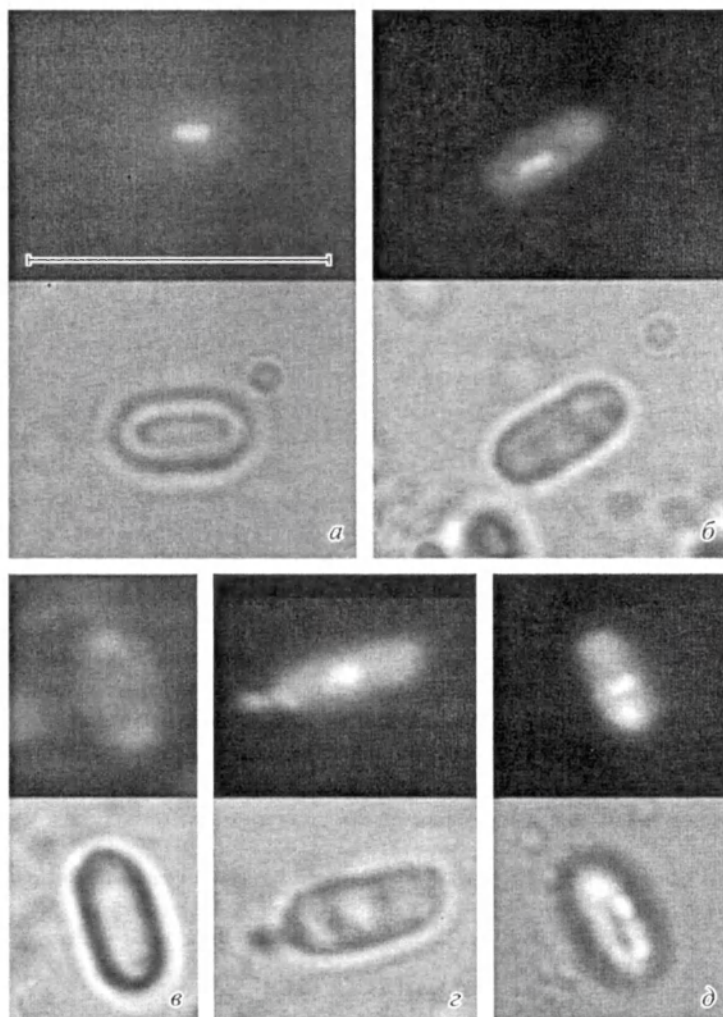


Рис. 2. Споры микроспоридий кукурузного мотылька.

Верхняя часть изображения — флюоресценция при окрашивании ДАФИ; нижняя часть — то же поле зрения, светлое поле. Масштабная линейка — 10 мкм. Остальные пояснения в тексте.

эндоспора не окрашивалась данным флюорохромом, в ряде случаев удавалось наблюдать дифференциальную картину окрашивания оболочки спор с темной полоской эндоспоры между окрашенным слоем экзоспоры и зоной цитоплазмы (рис. 2, в). В отдельных случаях часть окрашенного материала была расположена за пределами одного из полюсов споры, очевидно, в результате активации споры, ведущей к выбросу полярной трубки (рис. 2, г). Еще одна структура в спорах микроспоридий иногда окрашивалась ДАФИ и была заметна на фоне слабоокрашенной цитоплазмы (рис. 2, д). По размерам, форме и расположению на переднем полюсе споры можно предположить, что это полярoplast — сложный мембранный комплекс, образующийся в ходе спорогенеза из комплекса Гольджи и представляющий собой часть аппарата экстрезии.

Таблица 1

Распространенность микроспоридий в гусеницах стеблевого мотылька *Ostrinia* spp.
на территории Краснодарского края

Table 1. Dispersal of microsporidia in larvae of stem borers *Ostrinia* spp.
on the Krasnodar territory

Место и время сбора	Год	Кормовое растение	Осо- бей в ана- лизе	Зараженность гусениц микроспоридиями			
				Одиночные споры на мазке		Свыше 10 спор на поле зрения	
				Коли- чество	%	Коли- чество	%
Хутор Слободка, Славянский р-н	2005, 2006	Полынь	28	0	0	2	7.1
	2008, 2009	Кукуруза	33	15	45.5	1	3.0
	2010	»	29	0	0	5	17.2
Пос. Ботаника, Гулькевичский р-н	2005	»	16	0	0	1	6.3
	2006	Дурнишник	21	0	0	1	4.8
	2006	Дурнишник в посевах куку- рузы	32	0	0	4	12.5
	2009	Кукуруза	22	2	9	1	4.5

Показатели зараженности насекомых микроспоридиями. В среднем встречаемость микроспоридий гусениц, собранных в 2005—2010 гг. в Краснодарском крае ($N = 159$), составила 8.8 ± 2.25 %. Количество спор на мазок превышало 10 спор на поле зрения во всех образцах, за исключением сборов 2009 г. В последнем случае в гусеницах, собранных на кукурузе в Слободке и Ботанике, в 45.5 и 9 % гусениц соответственно были выявлены одиночные споры, что не рассматривается нами при оценке уровня зараженности. Зараженность гусениц в разных выборках, таким образом, ко-

Таблица 2

Морфометрические показатели спор микроспоридий
из стеблевых мотыльков *Ostrinia* spp.

Table 2. Morphometrical indices of microsporidian spores from stem borers *Ostrinia* spp.

Место сбора	Год	Кормовое растение	Размеры спор, среднее значение		Доля тера- тоспор, % $\pm m\%$
			длина \times ши- рина, мкм	размерный индекс (дли- на/ширина)	
Хутор Слободка, Славянский р-н	2005	Полынь	4.7 \times 2.6	1.83	2.00 \pm 1.14
	2006	»	4.6 \times 2.5	1.84	2.14 \pm 1.22
Пос. Ботаника, Гуль- кевичский р-н	2005	Кукуруза	4.9 \times 2.7	1.84	2.40 \pm 1.37
	2006	Дурнишник	4.8 \times 2.6	1.85	1.71 \pm 0.98
	2006	Дурнишник в посе- вах кукурузы	4.6 \times 2.5	1.83	0.82 \pm 0.48
Средние значения морфометрических показателей			4.7 \times 2.6	1.84	2.08

лебалась от 3.0 до 17.2 % (табл. 1), при этом максимальный показатель зараженности наблюдался в 2010 г., когда численность насекомых обоих видов снизилась до минимального значения за данный период наблюдений. Статистически достоверных различий между насекомыми, собранными на разных кормовых растениях, в разных географических точках и в разные годы не наблюдалось.

Размеры фиксированных спор составляли в среднем 4.7×2.6 мкм, размерный индекс (отношение длины к ширине): 1.84. Эти показатели практически не различались в разных выборках насекомых (табл. 2). Во всех исследованных образцах были выявлены так называемые тератоспоры (Tokarev et al., 2007b), превышающие по длине обычные споры микроспоридий примерно в 2 раза. Доля тератоспор среди обычных спор микроспоридий в образцах из разных сборов составляла от 1.7 до 2.4 %, в среднем 2.1 % (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Флюоресцентная микроскопия — один из наиболее надежных и чувствительных методов диагностики микроспоридий (Didier et al., 1995; Ignatius et al., 1997; Sokolova et al., 2004). Преимущество использования красителя ДАФИ в сравнении с другими флюорохромами заключается в его способности к связыванию не только ДНК-содержащего материала, но также мембранных структур и белковых комплексов. В ряде случаев это позволяет одновременно визуализировать интенсивно окрашенный ядерный аппарат, цитоплазму, экзоспору и неокрашенную зону эндоспоры в *Nosema*-подобных спорах микроспоридий. Кроме того, окрашивание этим красителем белков полярной трубки позволяет одновременно с диагностикой микроспоридий продемонстрировать жизнеспособность и, следовательно, инфекционность спор. Окрашивание ДАФИ этих структур в *Nosema*-подобных спорах наблюдалось для микроспоридий, заражающих прямокрылых насекомых и иксодовых клещей (Tokarev et al., 2007a).

Морфометрические показатели спор микроспоридий позволяют идентифицировать данный вид паразита как *Nosema pyrausta* (Paillot) (Kramer, 1959). Заражение микроспоридиями кукурузного мотылька на территории России выявлено впервые. Зараженность гусениц микроспоридиями не превышала 17.5 %. Тем не менее случаи инфекции были выявлены во всех проанализированных выборках 2005—2010 гг. вне зависимости от вида кормового растения и места обитания насекомых. Это говорит о широком распространении паразитов, сохраняющихся в популяции насекомого из года в год. Наличие запаса инфекции служит важной предпосылкой для возникновения эпизоотий, оказывающих существенное влияние на динамику численности массовых видов насекомых (Соколова, Исси, 2001).

Споры тератоидной природы, образовавшиеся в результате abortивного спорогенеза и обозначаемые как тератоспоры (Tokarev et al., 2007b), часто встречаются у микроспоридий как беспозвоночных (Knell et al., 1977; Henry, Oma, 1981; Solter et al., 1997), так и позвоночных хозяев (Ditrich et al., 1994). У микроспоридий чешуекрылых при развитии инфекции в нетипичном хозяине или нетипичных тканях отмечены нарушения спорогенеза

(Solter et al., 1997). На примере прямокрылых насекомых показано, что фактором, влияющим на образование тератоспор, может служить токсический эффект продуктов реакции меланизации, выполняющей ключевую роль в системе иммунитета беспозвоночных (Tokarev et al., 2007b). В других случаях причиной abortивного развития может служить перенаселение паразитом зараженных клеток и тканей хозяина (Исси, личное сообщение).

Доля тератоспор в разных образцах спор микроспоридий из кукурузного мотылька составляет около 2 %. Аналогично при исследовании образцов спор *Nosema pyrausta* из кукурузного мотылька во Франции и США также были выявлены споры аномального размера (Lipa, 1977) и формы (Kramer, 1960). При этом во французской популяции доля аномальных спор, превышающих размеры нормальных спор в 2 раза, как и в нашем материале, составляла 2 % (Lipa, 1977). По-видимому, образование тератоспор в небольших количествах свойственно как *O. nubilalis*, так и *O. scapularis*. Можно предположить, что, поскольку дивергенция этих двух видов по историческим меркам произошла совсем недавно, различия в паразито-хозяинных отношениях микроспоридий и данных насекомых хозяев еще не сформировались.

В природных популяциях чешуекрылых, в которых нет жестких ограничений контактов между особями, микроспоридии широко распространены. Это наблюдалось в популяциях лугового мотылька на юге России и в Молдове (Исси и др., 1980), капустной белянки на Северо-Западе России и в странах Балтии. При этом эпизоотический процесс может охватывать всю территорию, на которой распространен микроспоридиоз (Исси, 1986). В настоящей работе исследованы популяции двух близкородственных, но репродуктивно изолированных видов. Однако насекомые обоих видов обитают в одних и тех же биотопах и, учитывая высокий трансмиссионный потенциал микроспоридий, паразитирующих в чешуекрылых, можно ожидать заражение одним и тем же паразитом насекомых разных видов. Полученных нами данных недостаточно для того, чтобы судить о возможном вкладе микроспоридиоза в регуляцию численности кукурузного мотылька в Евразии. Следует, однако, отметить, что максимальный уровень заражения микроспоридиями был достигнут в фазу депрессии, наблюдавшейся в популяциях стеблевых мотыльков в 2010 г., при этом ему предшествовало увеличение числа случаев заражения насекомых одиночными спорами (что можно рассматривать как вариант латентной инфекции). Из-за небольшого объема выборок данная тенденция не имеет статистического подкрепления, но предполагает перспективность дальнейших исследований в этом направлении.

Таким образом, впервые описано заражение микроспоридиями стеблевых мотыльков в России и показано их широкое распространение в пределах Краснодарского края. Поскольку микроспоридии этого вида проявляют высокий эпизоотологический потенциал в условиях Северной Америки, представляется перспективным изучение их возможного вклада в динамику численности кукурузного мотылька в условиях России.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 07-04-92170, 10-04-00619 и 10-04-00284).

Список литературы

- Исси И. В. 1986. Микроспоридии как тип паразитических простейших. Микроспоридии. Сер. Протозоол. Л.: Наука. 10: 6—135.
- Исси И. В., Симчук П. М., Радищева Д. Ф. 1980. Микроспоридиоз лугового мотылька *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera, Pyralididae). Бюлл. ВИЗР. Биол. метод. Л. 48: 3—6.
- Соколова Ю. Я., Исси И. В. 2001. Энтомопатогенные простейшие и особенности патогенеза протозойных заболеваний насекомых. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. М.: Круглый год. 76—182.
- Фролов А. Н. 1994. Формирование барьеров половой изоляции у кукурузного мотылька *Ostrinia nubilalis*: различия в стратегиях использования растений-хозяев. Журн. общ. биол. 55 (2): 189—197.
- Фролов А. Н. 2004. Биотические факторы депрессии кукурузного мотылька. Вестн. защиты растений. 2: 37—47.
- Becnel J. J., Andreadis T. G. 1999. Microsporidia in insects. The microsporidia and microsporidiosis. 447—501.
- Cagan L., Bokor P., Plackova A. 1998. Dissemination of the parasite *Nosema pyrausta* in populations of European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) in Slovakia, the Czech Republic and Poland. Sci. Journ. Phytotech. Zootech. Nitra: Slovenska pol'nohospodarska univerzita. 9 (3): 81—85.
- Didier E. S., Orenstein J. M., Aldras A., Bertucci D., Rogers B., Janney F. A. 1995. Comparison of three staining methods for detecting microsporidia in fluids. Journ. Clin. Microbiol. 33: 3138—3145.
- Ditrich O., Lom J., Dykova I., Vavra J. 1994. First case of *Enterocytozoon bieneusi* infection in the Czech-Republic — comments on the ultrastructure and teratoid sporogenesis of the parasite. Journ. Euk. Microbiol. 41: 35—36.
- Favilla R., Stecconi G., Cavatorta P., Sartor G., Mazzini A. 1993. The interaction of DAPI with phospholipid vesicles and micelles. Biophys. Chem. 46 (2): 217—226.
- Frolov A. N., Bourguet D., Ponsard S. 2007. Reconsidering the taxonomy of several *Ostrinia* species in the light of reproductive isolation: a tale for E. Mayr. Biol. Journ. Linn. Soc. 91: 49—72.
- Frolov A. N., Audiot P., Bourguet D., Kononchuk A. G., Malysh J. M., Ponsard S., Streiff R., Tokarev Y. S. 2011. «From Russia with love»: genetic differentiation in trilobed uncus *Ostrinia* spp. follows food plant, not hairy legs. Heredity (in press).
- Henry J. E., Oma E. A. 1981. Pest control by *Nosema locustae*, a pathogen of grasshoppers and crickets. Microb. Control Pest and Plant Diseases 1970—1980. London, San Francisco: Academic Press. 574—586.
- Hudon M., LeRoux E. J., Harcourt D. G. 1989. Seventy years of European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) research in North America. Biology and population dynamics of invertebrate crop pests. Andover: Intercept Ltd. 1—44.
- Ignatius R., Henschel S., Liesenfeld O., Mansmann U., Schmidt W., Koppe S., Schneider T., Heise W., Futh U., Riecken E. O., Hahn H., Ullrich R. 1997. Comparative evaluation of modified trichrome and Uvitex 2B stains for detection of low numbers of microsporidial spores in stool specimens. Journ. Clin. Microbiol. 35 (9): 2266—2269.
- Iwano H., Kurtti T. J. 1995. Identification and isolation of dimorphic spores from *Nosema furnacalis* (Microspora: Nosematidae). Journ. Invertebr. Pathol. 65 (2): 230—236.

- Knell J. D., Allen G. E., Hazard E. I. 1977. Light and electron-microscope study of *The-lohania-Solenopsae* n-sp (Microsporida—Protozoa) in red imported fire ant, *Solenop-sis-Invicta*. Journ. Invertebr. Pathol. 29: 192—200.
- Kramer J. P. 1959. Studies on the morphology and life history of *Perezia pyraustae* Paillot (Microsporidia: Nosematidae). Trans. Amer. Microscop. Soc. 78: 336—342.
- Kramer J. P. 1960. Variations among the spores of the microsporidian *Perezia pyraustae* Paillot. Amer. Midl. Natur. 64: 485—487.
- Lewis L. C., Lynch R. E. 1978. Foliar application of *Nosema pyrausta* for suppression of populations of European corn borer. Entomophaga. 23 (1): 83—88.
- Lipa J. J. 1977. *Thelohania ostriniae* n. sp., a new microsporidian parasite of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hnb. (Lepidoptera, Pyralidae). Acta Protozool. 16 (1): 151—155.
- Mazzini A., Beltramini M., Favilla R., Cavatorta P., Di Muro P., Salvato B. 1994. An oxygenation-sensitive dye binding to *Carcinus maenas* hemocyanin. Biophys. Chem. 52 (1): 145—156.
- Mutuura A., Monroe E. 1970. Taxonomy and distribution of the European Corn Borer and allied species: genus *Ostrinia* (Lepidoptera: Pyralidae). Mem. Entomol. Soc. Amer. 71: 1—112.
- Pélissie B., Ponsard S., Tokarev Y. S., Audiot Ph., Pélissier C., Sabatier R., Meusnier S., Chaufaux J., Delos M., Campan E., Malysh J. M., Frolov A. N., Bourguet D. 2010. Did the introduction of maize into Europe provide enemy-free space to *O. nubilalis*? — parasitism differences between two sibling species of the genus *Ostrinia*. Journ. Evol. Biol. 23: 350—361.
- Pezzutti R., Serini Bolchi G. 1977. *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (Lepidoptera Pyralidae) e il suo parassita *Perezia pyraustae* Paillot (Sporozoa, Microsporidia) in colture maidicole lombarde. Boll. Zool. Agr. Bachicolt. 14: 181—188.
- Siegel J. P., Maddox J. V., Ruesink W. G. 1988. Seasonal progress of *Nosema pyrausta* in the European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis*. Journ. Invertebr. Pathol. 52 (1): 130—136.
- Sokolova Yu. Ya., Sokolov I. M., Fuxa J. R. 2004. Identification of Microsporidia infections in nature: light microscopy or PCR? Protistology. 3: 273—281.
- Solter L. F., Onstad D. W., Maddox J. V. 1990. Timing of disease-influenced processes in the life cycle of *Ostrinia nubilalis* infected with *Nosema pyrausta*. Journ. Invertebr. Pathol. 55 (3): 337—341.
- Solter L. F., Maddox J. V., McManus M. L. 1997. Host specificity of microsporidia (Protista: Microspora) from European populations of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) to indigenous North American Lepidoptera. Journ. Invertebr. Pathol. 69 (1): 135—150.
- Thomas Y., Bethenod M.-T., Pélozuelo L., Frérot B., Bourguet D. 2003. Genetic isolation between host plant races of the European corn borer. I. Sex pheromone, moth emergence timing and parasitism. Evolution. 57 (2): 261—273.
- Tokarev Yu. S., Malysh Yu. M., Munteanu N. V., Fefelova Yu. A., Senderskii I. V. 2007a. Diagnosis of Microsporidian Infections in Arthropod Hosts. European Congress of Protistology and XI European Conference on Ciliate Biology. St. Petersburg, July 23—27, 2007. Protistology. 5 (1): 79—80.
- Tokarev Yu. S., Sokolova Yu. Ya., Entzeroth R. 2007b. Microsporidia-insect host interactions: Teratoid sporogony at the sites of host tissue melanization. Journ. Invertebr. Pathol. 94 (1): 70—73.

INCIDENCE OF MICROSPORIDIAN INFECTION OF STEM BORERS
OF THE GENUS *OSTRINIA* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)
IN THE KRASNODAR TERRITORY

Yu. M. Malysh, Yu. S. Tokarev, N. V. Sitnikova,
A. G. Kononchuk, T. A. Grushetskaya, A. N. Frolov

Key words: microsporidia, infection incidence rate, corn borer, stem borer, *Nosema pyrausta*.

SUMMARY

Infection of corn borers of the genus *Ostrinia* with microsporidia is found for the first time in Russia. Incidence rates of the last instar larvae of the second generation, sampled under natural conditions in the Krasnodar Territory, is ranged between 3.0 and 17.2 %. When infection incidence rates have been compared between larvae, collected (a) on the western and eastern borders of the region and (b) on dicotyledonous (cocklebur, mugwort) and monocotyledonous plants (maize), no distinct differences were found. Infection rates were maximal in larvae of *Ostrinia nubilalis* when its population entered the depression phase, yet it did not differ significantly from the values of the previous years. Morphometric characters of the spores allows identifying the parasite species as *Nosema pyrausta*. These data demonstrate wide dispersal of microsporidia in the populations of stem borers on diverse forage plants within the boundaries of the Krasnodar Territory.
